

II- 1387 - IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTRATO MICROALGAL PROVENIENTE DE LAGOA DE ALTA TAXA

Acson Gonçalves de Lima⁽¹⁾

Graduando em engenharia civil pela Universidade Federal de Pernambuco. Bolsista de iniciação científica do programa PRH/ANP.

Edilberto Mariano da Silva⁽²⁾

Graduando em engenharia civil, pela Universidade Federal de Pernambuco. Bolsista de iniciação científica do programa PRH/ANP.

Paulo Henrique da Silva⁽³⁾

Técnico em química Industrial, pelo Instituto Federal de Pernambuco. Químico Industrial, pela Universidade Federal de Pernambuco, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Civil com Ênfase em Tecnologia Ambiental da Universidade Federal de Pernambuco.

Lourdinha Florencio⁽⁴⁾

Engenheira civil, pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestre em engenharia civil, com ênfase em hidráulica e saneamento, pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC-USP). Doutora em ciências agrícolas e ambiental, com ênfase em tecnologia ambiental, pela Universidade de Wageningen, Holanda. Professora titular do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da UFPE.

Wanderli Rogério Moreira Leite⁽⁵⁾

Engenheiro ambiental, pela Universidade do Estado do Pará (UEPA). Mestre e doutor em engenharia ambiental, pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Professor adjunto do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da UFPE.

Endereço⁽¹⁾: Ilheus, 365. Piedade – Jaboatão dos Guararapes - PE - CEP 54420-150 - Brasil - Tel: + 55 (81) 98521-5445 - e-mail: acson.lima@ufpe.br

RESUMO

Medidas eficientes visando a diminuição de emissão dos gases do efeito estufa, ou mesmo, cadeias produtivas que incorporam carbono, em um sistema de economia circular, vem se configurando como o maior desafio de nossa geração. Neste cenário, as lagoas de alta taxa (LATs) se apresentam como uma alternativa que auxilia na captura de carbono, por serem meios ricos em nutrientes e abertos a radiação solar, fornecem um ambiente adequado para o cultivo de microalgas, principais constituintes da biomassa (BA) existentes nessas lagoas. De posse de tal constatação, o manejo adequado do excedente da BA necessária ao tratamento de efluente pode ser empregado como matéria prima para produtos de valor agregado.

Sendo assim, o presente trabalho avaliou as características físico-químicas e de diversidade de organismos contidos em BA e agregados de microalga-bactéria (AMAB) provenientes de LAT para fins de aproveitamento energético em digestão anaeróbia, caracterizando e comparando amostras de BA e AMAB coletadas em diferentes estágios operacionais das LATs discutindo a viabilidade de utilização em função de características físico-químicas e microscópicas.

A partir dos estudos realizados verificou-se uma evidente distinção da BA quando coletada em diferentes estágios de operação, sendo a amostra referente a estágios iniciais com maior variedade de gêneros de microalgas e uma abundância dos gêneros *Chlorella sp.* e *Desmodesmus sp.* em ambas as etapas. Observou-se que o rendimento de metano obtido para a BA 1 corresponde a cerca de 30% do potencial teórico e dentro da faixa de rendimentos de metano relatada na literatura para diferentes gêneros de microalgas. Além disso, verificou-se que o cultivo de biomassa algal-bacteriana a partir de lodo ativado pode resultar em uma biomassa significativamente mais adequada à digestão anaeróbia. Os resultados mostram uma elevada relação C/N, quando comparada à biomassa predominantemente algal, e dentro de intervalos adequados à biodigestão.

PALAVRAS-CHAVE: Efluentes Sanitários e Industriais, caracterização, coleta, tratamento, microalga, reuso, biomassa

INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas são o desafio mais urgente de nossa geração. Embora a redução de emissões de gases do efeito estufa seja de grande importância, por si só, não é suficiente para limitar o aquecimento global abaixo de 1,5 °C em relação a níveis pré-industriais (IPCC, 2021). Desse modo, governos e sociedade civil vêm unindo esforços para desenvolver e implementar técnicas de sequestro do carbono. Neste cenário, algas unicelulares, seres fotossintetizantes capazes de incorporar principalmente dióxido de carbono (CO₂) constituindo a biomassa algal (BA), apresentam-se como uma promissora fonte de energia e alimento, além de ser uma estratégia eficiente no tratamento de efluentes (DE LA NOÛE; DE PAUW *et al.*, 1988).

Muitos são os métodos de cultivo de microalgas para tratamento de esgoto. A BA pode ser cultivada como um subproduto gerado dentro de um sistema integrado de tratamento de efluentes, onde o excedente de biomassa gerado pode ser aproveitado para fins de geração de produtos de valor agregado (DE LA NOÛE; DE PAUW *et al.*, 1988). Mais especificamente, lagoas de alta taxa (LAT), destacam-se pela alta produção de biomassa algal e facilidade de operação (DE ASSIS *et al.*, 2020). São sistemas abertos do tipo canaleta, em que uma roda de pás promove a mistura em um único passe ou mais, com ou sem adição de CO₂ e variando de 0,2 a 1 m de altura (PARK *et al.*, 2011).

As características físico-químicas da biomassa de microalga podem influenciar a decisão para escolha do manejo e aproveitamento da biomassa. Além disso, a diversidade de um gênero e/ou espécie pode ainda influenciar processos de valorização deste resíduo. Na digestão anaeróbia, sabe-se que as algas do gênero *Cyclotella sp.* e *Desmodesmus sp.* são facilmente aplicáveis para a produção de metano, ao passo que, *Bacillariophitas sp.* são ricas em lipídios (SINGH *et al.*, 2010).

Além disso, com o objetivo de melhorar a sedimentabilidade e a colheita da biomassa, o cultivo em simultâneo com bactérias tem se tornado fonte de estudos de otimização do tratamento de efluentes e produtividade. A biomassa de agregados de microalgas e bactérias (AMAB) se caracteriza pela formação simbiótica de flocos ou grânulos a partir da excreção de polímeros catiônicos (EPS) que auxiliam na desestabilização de cargas negativas das células. Sendo assim, microalgas produzem O₂ durante a fotossíntese, que é assimilado por bactérias heterotróficas produtoras de CO₂, gás utilizado na fotossíntese. Bem como as espécies de microalgas, o consórcio algal-bacteriano como um todo deve ser fonte de análise visto que difere em composição elementar, o que pode vir a produzir um processo de biodigestão com rendimento diferenciado (QUIJANO; ARCILA; BUITRÓN, 2017).

Neste sentido, a utilização do gás metano desponta como uma tecnologia estratégica de conversão de biomassa residual em bioenergia. O presente trabalho realizou a caracterização microscópica e química de biomassa algal (BA) e de agregados de microalga-bactéria (AMAB) coletadas em LAT em períodos e regimes de alimentação diferentes. A produção bioquímica de metano a partir da BA ainda foi investigada.

OBJETIVOS DO TRABALHO

O trabalho objetiva avaliar as características físico-químicas e de diversidade de organismos contidos em biomassa algal (BA) e agregados de microalga-bactéria (AMAB) provenientes de lagoa de alta taxa para fins de aproveitamento energético em digestão anaeróbia, caracterizando e comparando amostras de BA e AMAB coletadas em diferentes estágios operacionais das LATs.

MATERIAIS E MÉTODOS

Tanto a Biomassa algal (BA) quanto os agregados de microalga-bactéria (AMAB) foram cultivados e coletados em uma das lagoas do sistema de LAT escala piloto instalada na Estação de Tratamento de Efluentes Mangueira, situada em Recife (PE), Brasil. As lagoas são precedidas pelo tratamento preliminar e tratamento secundário, com reatores UASB, do esgoto doméstico afluente à estação. A lagoa utilizada apresenta comprimento de 6 metros, largura de 1,4 m, altura de lâmina d'água de 30 cm, área superficial de 8 m² e volume útil de 2,4 m³. Para a agitação, utilizou-se um sistema de motor-redutor controlado por meio de um quadro de comando que permite o controle da velocidade, definida em 0,5 m/s.

Na Fase 1, não houve adição de lodo ativado e coletou-se a biomassa algal (BA) em dois momentos, uma no mês de fevereiro de 2022 (BA 1) e a outra em setembro do mesmo ano (BA 2). Nesse período, a LAT funcionou com alimentação contínua de efluente pós-tratado. A BA foi recolhida utilizando duas peneiras granulométricas e rede de fitoplâncton. Após a retenção da BA, a amostra foi carregada com água deionizada até o recipiente de armazenamento e refrigerada. Para as análises de microscopia não foram concentradas como descrito anteriormente, preservando-se as condições encontradas na LAT.

A biomassa composta por flocos de microalgas e bactérias (AMAB) foi formada na Fase 2 de operação do sistema que se iniciou em fevereiro de 2023 com a adição de lodo ativado em uma concentração de aproximadamente 180 mgSSV/L, como recomenda Sátiro (2021). Após o enchimento com o esgoto já descrito, a lagoa operou em batelada única durante 20 dias, considerado o final da etapa de maturação de acordo com os dados e em consonância com a literatura (DOS SANTOS *et al.*, 2022). O desenvolvimento das espécies de microalgas foi medido por meio da clorofila-a (LEONG *et al.*, 2018).

A formação de flocos de microalga-bactéria foi medida por meio da extração de EPS (ARCILA; BUITRÓN, 2017) seguida pela determinação das frações de polissacarídeos e proteínas, segundo (DUBOIS *et al.*, 1956) e (LOWRY *et al.*, 1951), respectivamente. Por fim, durante a maturação, foram feitos testes de eficiência de sedimentação segundo Sátiro (2021). As amostras AMAB foram coletadas diretamente do liquor misto da LAT e não passaram por etapa de adensamento.

As diferentes amostras foram analisadas quanto às suas propriedades físicas e químicas, obtidos de acordo com os métodos padrão (APHA, 2017). Foram determinados: O teor de carbono orgânico total (COT), pela equação: $COT (mg.L^{-1}) = DQO(mg.L^{-1}) \times 0,4$ (DA SILVA *et al.*, 2020); O teor de lipídios totais, utilizando destilador Soxhlet e determinando a fração lipídica por gravimetria (BLIGH E DYER, 1959); O teor de proteínas é dado por $6,25 \times NTK$ (PRAJAPATI *et al.*, 2014); Por fim, o teor de carboidratos foi considerado como a fração remanescente dos sólidos totais (SURESH *et al.*, 2013).

O PBM da BA 1 foi avaliado através de testes em batelada em duplicata com lodo anaeróbico de cervejaria utilizado como inóculo. Os testes foram executados utilizando frasco de vidro de 300mL, com volume de trabalho de 240 mL. A concentração inicial de substrato foi de 2,5 gSV.L⁻¹ e uma relação alimento/microrganismo de 0,5 gSV.g⁻¹SV. Bicarbonato de sódio (NaHCO₃) foi adicionado (1g NaHCO₃.g⁻¹DQO_{adicionada}), além de água deionizada, completando o volume de trabalho. Posteriormente, os reatores foram lacrados, purgados com N₂, mantidos a 30 ± 1 °C, e agitados manualmente durante 28 dias.

O reator foi ligado a um recipiente contendo solução de hidróxido de sódio, sendo o volume de líquido deslocado correspondendo ao CH₄ produzido, medido por gravimetria. A produção foi corrigida para as condições padrão de 0 °C e 1 atm e o rendimento cumulativo de metano foi expresso como NmL CH₄.g⁻¹SV_{ad}. Também foi avaliado o Potencial Estequiométrico de Metano (PEM), calculado a partir da equação 1 (ANGELIDAKI e SANDERS, 2004).

$$PEM = \frac{1014 \times fL + 851 \times fP + 415 \times fC}{100} \quad \text{equação (1)}$$

Onde: PEM (mL CH₄.g⁻¹SV); **fL**, **fP** e **fC**: frações de lipídios, proteínas e carboidratos (% ST) da BA seca, respectivamente.

RESULTADOS OBTIDOS

A microscopia foi realizada e está apresentada na Figura 1. Analisando a biomassa algal 1 (BA 1) foi possível identificar que a amostra era composta predominantemente por microalgas do gênero *Chlorella sp.* e pelos gêneros *Cyclotella sp.* e *Desmodesmus sp.* em menor quantidade. Para a amostra BA 2, os seguintes gêneros foram encontrados: *Chlorella sp.*, presente em grande quantidade; *Desmodesmus sp.* e *Scenedesmus sp.* abundantes no substrato e em estágio de desenvolvimento bastante avançado, caracterizadas por possuírem uma coloração marrom acastanhada e conhecidas na literatura por serem grandes produtoras de lipídios; e *Nitzschia sp.*, alojadas nas proximidades dos aglomerados de *Diatomácias sp.*

Observa-se na Figura 1c e 1d o início e final, respectivamente, do período de maturação dos flocos de AMAB na Fase 2. A caracterização inicial aponta uma biomassa flocculenta de lodo ativado comum. Após os 20 dias, é possível observar a presença de flocos maduros e bem estruturados, nos quais microalgas filamentosas do gênero *Stigeoclonium sp.* atuam como suporte de um núcleo formado por microalgas não filamentosas e bactérias aeróbias, um processo já apontado na literatura (SALES *et al.*, 2022). No início do processo, apenas escassas células de *Desmodesmus sp.* foram observadas no lodo. Ao final, foram encontradas elevadas quantidades de *Desmodesmus sp.*, equivalendo a 88,89% do total, e *Scenedesmus sp.*, *Chlorella sp.*, *Nitzschia sp.*, *Cyclotella sp.*, *Navicula sp.*, *Pediastrum sp.* e *Pinaculada sp.*

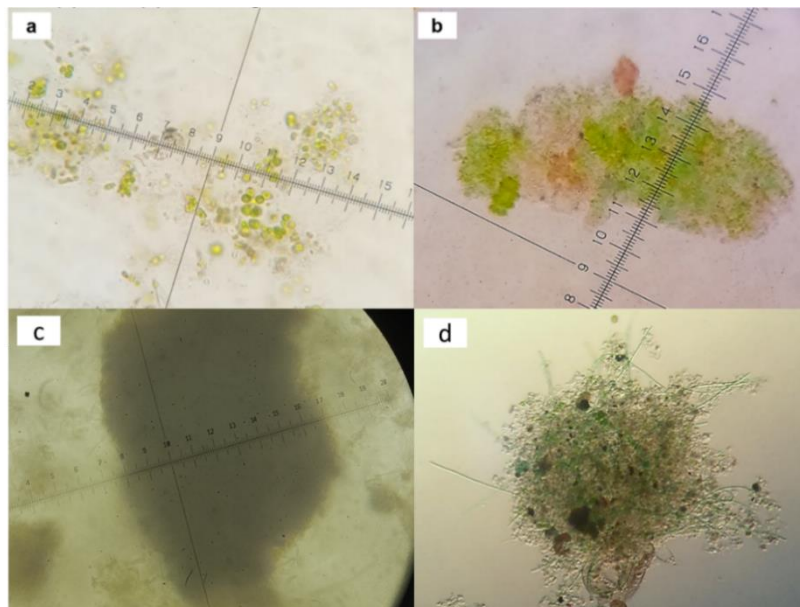


Figura 1: Imagem microscópica das amostras biomassa algal e agregados AMAB provenientes de lagoas de alta taxa. (a) BA1. (b) BA2. (c) Início do cultivo de flocos AMAB. (d) Flocos AMAB 20 dias depois. Magnitude: 40x.

No início da formação de flocos AMAB, a clorofila medida foi de $0,154 \text{ mg.gSSV}^{-1}$, valor que elevou-se para $5,994 \text{ mg.gSSV}^{-1}$ após a maturação de 20 dias, corroborando o desenvolvimento algal (DOS SANTOS NETO *et al.*, 2021). Além disso, a eficiência de sedimentação aumentou de 78,27% no início, para 98,39% ao fim da maturação. Os dados de EPS, por sua vez, aumentaram de 37,34 e 30,38 mg/gSSV de EPS polissacarídeos e proteínas, respectivamente, para 48,98 e 90,14 mg/gSSV . Esses valores demonstram a formação de uma biomassa sedimentável e rica em agregados de microalgas e bactérias.

A Tabela 1 apresenta os resultados obtidos da caracterização físico-química das duas amostras de BA e AMAB utilizadas neste trabalho. O pH das amostras BA ficaram próximos da neutralidade, o que é adequado para o processo de digestão anaeróbia. No caso de AMAB, como não foi feito um adensamento da biomassa, o pH do meio não refletiria o pH resultante da biomassa lavada e concentrada e, portanto, não se obteve esse dado. Em geral, a BA 2 apresentou concentrações de DQO, COT, NTK e sólidos mais elevadas que a BA 1, devido a uma maior concentração da biomassa no momento da coleta. No entanto, as razões C/N e SV/ST apresentaram valores relativamente próximos.

Tabela 1: Caracterização físico-química das amostras de biomassa algal (BA) e agregados de microalga-bactéria (AMAB).

PARÂMETROS	BA1	BA2	AMAB
pH	7,1	6,8	NA ^(c)
DQO bruta (mg O ₂ .L ⁻¹)	20031 ± 703 ^(a)	39220 ± 410	384,7 ± 30
Carbono Orgânico Total (mg.L ⁻¹)	8012,40	15688,00	153,88
Nitrogênio Total de Kjeldahl (mg.L ⁻¹)	1022 ± 7	2415 ± 80	12,0 ± 0,7
Nitrogênio Amoniacal (mg.L ⁻¹)	56 ± 2	233 ± 9	0,52 ± 0,02
C/N ^(b)	7,80	6,50	12,81
Fósforo Total (mg.L ⁻¹)	147 ± 8	120 ± 3,0	1,16 ± 0,08
Sólidos Totais (mg.L ⁻¹)	21528 ± 232	51890 ± 1990	169 ± 24
Sólidos Voláteis (mg.L ⁻¹)	13578 ± 393	34130 ± 1580	149 ± 25
SV/ST	63,1	65,8	87,99
Lipídios (%ST)	18,1	NA	17,68
Proteínas (%ST)	29,7	NA	44,34
Carboidratos (%ST)	15,3	NA	NA
^(a) Média ± desvio padrão			
^(b) COT/NTK.			
^(c) não avaliado.			

No que se refere às relações C/N, estas foram da ordem de 7,8:1 para BA 1, 6,5:1 para BA 2 e 15,08 para AMAB. Quanto à biomassa algal, os resultados indicam não haver limitação de nitrogênio, porém apontam um desequilíbrio entre os requisitos de carbono para nitrogênio para a comunidade anaeróbia, uma vez que são inferiores à faixa ideal, entre 15:1 e 30:1 (SOLÉ-BUNDÓ *et al.*, 2019). Este desequilíbrio pode levar à liberação de amônia e afetar a estabilidade do reator. As baixas relações C/N observadas estão de acordo com valores reportados na literatura, e são consequência da alta fração de proteínas comumente encontrada nas microalgas, que neste estudo correspondeu a cerca de 29,7% dos ST, para a BA 1, enquanto as frações de lipídios e carboidratos foram de 18,1% e 15,3%, respectivamente. Mesmo o valor de AMAB de 34,09% ainda se encontra entre valores relativamente comuns (MUÑOZ; GUIEYSSE, 2006). A Figura 2 apresenta o rendimento acumulado de metano para a digestão anaeróbia da BA 1.

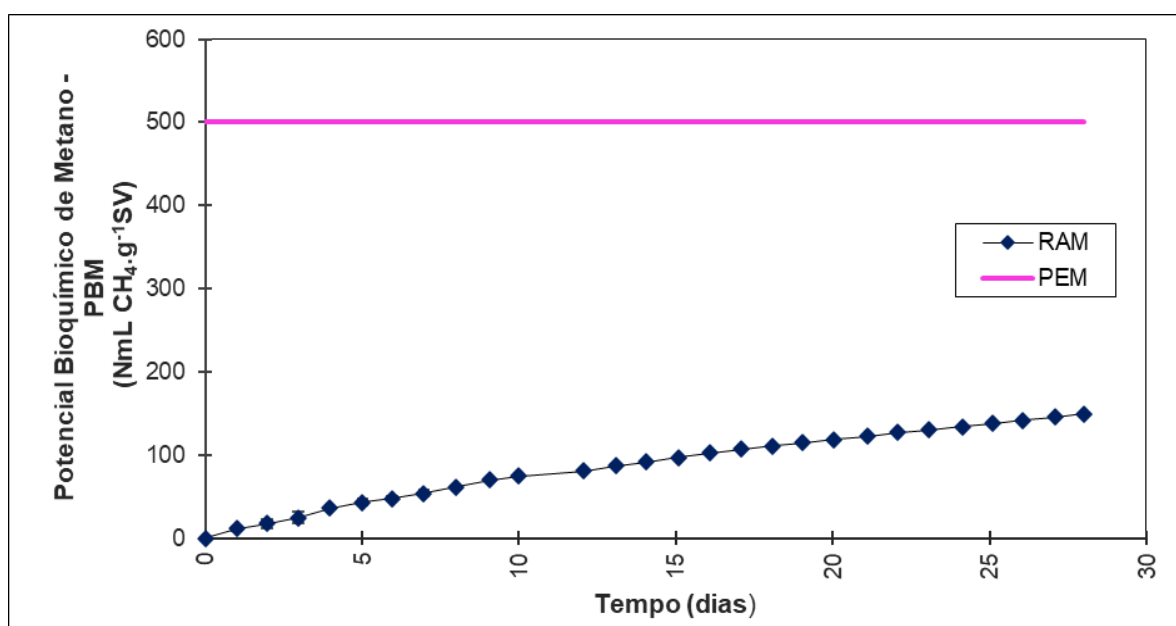


Figura 2: Rendimento acumulado de metano (RAM) e potencial estequiométrica de metano (PEM) para digestão anaeróbia da BA 1 (média ± desvio padrão).

Conforme observado na Figura 2, a fase lag foi praticamente inexistente, uma vez que a relação S/I de 0,5 gSV.g⁻¹SV foi suficiente para permitir a rápida degradação do substrato. O rendimento máximo de metano da BA 1, obtido aos 28 dias de experimento, foi de $149,7 \pm 2,8$ NmL CH₄.g⁻¹SV. Para fermentação metanogênica da biomassa algal 1, o PEM estimado foi da ordem de 500 ml CH₄.g⁻¹SV. Portanto, o rendimento de metano real representou apenas cerca de 30% do valor de PEM calculado.

ANÁLISE DOS RESULTADOS

As amostras de BA e AMAB analisadas apresentaram comunidades relativamente distintas. Apesar do gênero *Chlorella* sp. ter sido predominante nas duas amostras, a BA 1 apresentou pouca variedade de gêneros, enquanto na BA 2 foi possível identificar uma maior heterogeneidade. Isto deve-se, em partes, às condições operacionais das lagoas nos diferentes períodos em que as amostras foram coletadas. Quando a BA 2 foi coletada, as LATs já se encontravam em operação, de forma que a comunidade de microalgas já estava consolidada ao meio que lhe favorecia. Por outro lado, a BA 1 foi coletada no início operacional das lagoas, o que explica os diferentes gêneros de microalgas encontrados na amostra, fato que também explica a variedade encontrada na amostra AMAB.

Quanto à biomassa de agregados de microalgas e bactérias, *Desmodesmus* sp. foi dominante ao final da formação dos flocos. Porém, houve uma elevada variedade de espécies, chamando-se atenção para a presença das microalgas filamentosas, que conferiram uma estabilidade nos flocos e melhorias na sedimentabilidade. O baixo rendimento de metano obtido para BA 1 já era esperado, sobretudo devido ao fato de que microalgas do gênero *Chlorella* sp. são reconhecidas por apresentarem resistência à degradação anaeróbia, devido às suas paredes celulares rígidas. O resultado encontrado neste trabalho foi compatível com o relatado por Wang et al. (2013) para *Chlorella* sp. (123 NmL CH₄.g⁻¹SV).

Melo Filho (2017), caracterizando a biomassa algal utilizada em seu trabalho de digestão anaeróbia, indicou percentuais de proteínas, lipídios e carboidratos de 44,1%, 11,0% e 18,4%, em termos de matéria seca (ST), respectivamente. O rendimento máximo de CH₄ obtido pelo autor para biomassa de *Chlorella* sp. foi de 256 mL CH₄.g⁻¹SV, após 16 dias de experimento, representando cerca de 46% do PEM estimado. Maiores rendimentos obtidos por trabalhos como o citado em comparação com o presente estudo, podem ser explicados pelas diferenças na composição macromolecular das microalgas utilizadas, além de que a relação C/N relatada pelo autor foi de 11:1, estando este valor mais próximo da faixa ideal para digestão anaeróbia, quando comparado à BA utilizada no presente estudo.

Tendo em vista que comumente são relatados na literatura baixos rendimentos de metano para diferentes gêneros de microalgas, o PEM tende a superestimar a produção de metano real. Isso acontece porque assume-se que a conversão de sólidos voláteis a biogás acontecerá em sua totalidade e, ainda, desconsidera as necessidades de manutenção bacteriana celular e anabolismo. Além disso, no caso particular das microalgas, além da baixa digestibilidade da parede celular, o desequilíbrio da relação C/N apresenta-se como uma das maiores complexidades a serem enfrentadas durante o processo de digestão, o que resulta na baixa eficiência de conversão destes microrganismos a biogás.

Apesar de não realizada a análise da produção bioquímica de metano com a biomassa de AMAB, o resultado da caracterização frente ao obtido a partir da amostra BA1, permite inferir que os agregados de microalga-bactéria formados a partir da adição de lodo ativado possuem uma utilização promissora na digestão anaeróbia. Isso se dá em razão da menor presença relativa de microalgas, o que aumenta a razão C/N a valores apontados pela literatura como mais adequados. Neste trabalho, a biomassa AMAB analisada se caracterizou por flocos de microalga-bactéria recém-formados e bem estruturados, o que resultou em uma relação C/N de 15,08, valor excelente frente aos resultados obtidos neste trabalho e de outros autores usando microalgas apenas.

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Ao avaliar duas amostras de biomassa algal coletadas nas Lagoas de Alta Taxa, em períodos diferentes (janeiro e setembro de 2022), verificou-se que os gêneros de microalgas encontrados foram relativamente diferentes, o que pode ser explicado devido às condições operacionais. Além disso, fatores associados às condições climáticas são determinantes para a composição da biomassa algal, em particular a radiação solar e

temperatura ambiente, visto que influenciam nas taxas de crescimento das microalgas. Portanto, a conversão em bioenergia de biomassa algal coletada em LATs pode apresentar grandes variações, a depender das condições locais onde a BA foi coletada, tendo em vista que a composição macromolecular e produtividade das microalgas norteiam o rendimento de metano e a viabilidade econômica do aproveitamento energético desta fonte de matéria orgânica.

Através dos testes de digestão anaeróbia, observou-se que o rendimento de metano obtido para a biomassa algal 1 (BA 1) foi relativamente baixo, correspondendo a cerca de 30% do potencial teórico, no entanto, foi compatível com a faixa de rendimentos de metano relatada na literatura para diferentes gêneros de microalgas. O baixo potencial de produção de metano das microalgas deve-se a algumas limitações, em especial a baixa biodegradabilidade da parede celular e risco de inibição por amônia, associado à baixa proporção de carbono para nitrogênio (C/N). Dessa forma, algumas alternativas tecnológicas podem ser utilizadas visando contornar estes obstáculos, em especial a aplicação de métodos de pré-tratamento para romper a parede celular das microalgas, além da digestão simultânea de dois ou mais substratos (codigestão anaeróbia), que visa principalmente a utilização de co-substratos ricos em carbono, para possibilitar a manutenção da relação C/N do reator dentro da faixa ideal.

Além disso, este trabalho demonstrou que o cultivo de biomassa algal-bacteriana a partir de lodo ativado pode resultar em uma biomassa significativamente mais adequada à digestão anaeróbia. Os resultados mostram uma elevada relação C/N, quando comparada à biomassa predominantemente algal, e dentro de intervalos adequados à biodigestão. Além de ser uma estratégia de reuso do lodo, a literatura aponta diversos benefícios quanto ao tratamento do meio de crescimento (efluente). As próximas etapas da presente linha de pesquisa deverão focar na avaliação do rendimento de metano encontrados na digestão de biomassas de AMAB.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANGELIDAKI, I.; SANDERS, W. *Assessment of the anaerobic biodegradability of macropollutants. Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 2004.
2. APHA, A. W. W. A. WEF 2012. *Standard methods for the examination of water and wastewater*, 2012.
3. ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. *Influence of solar irradiance levels on the formation of microalgae-bacteria aggregates for municipal wastewater treatment. Algal Research*, v. 27, p. 190–197, 1 nov. 2017.
4. BLIGH, E. G.; DYER, W. J. *A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian journal of biochemistry and physiology*, 1959.
5. DA SILVA, I. J. S. et al. *Microwave-assisted digestion employing diluted nitric acid for mineral determination in rice by ICP OES. Food chemistry*, 2020.
6. DE ASSIS, R. L.; CALIJURI, M. L.; ASSEMAN, P. P.; SILVA, T. A.; TEIXEIRA, J. S. *Innovative hybrid system for wastewater treatment: High-rate algal ponds for effluent treatment and biofilm reactor for biomass production and harvesting. Journal of Environmental Management, London*, 2020.
7. DE LA NOÛE, J., DE PAUW, N. *The potential of microalgal biotechnology. A review of production and uses of microalgae. Biotechnology Advances*, v. 6, p. 725–770, 1988.
8. DOS SANTOS NETO, A. G. et al. *Strategy for the formation of microalgae-bacteria aggregates in high-rate algal ponds. Environmental Technology (United Kingdom)*, 2021.
9. DUBOIS, M. et al. *Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. Analytical Chemistry*, v. 28, n. 3, p. 350–356, 1 mar. 1956.
10. LEONG, W. H. et al. *Co-cultivation of activated sludge and microalgae for the simultaneous enhancements of nitrogen-rich wastewater bioremediation and lipid production. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, v. 87, p. 216–224, 1 jun. 2018.
11. LOWRY, O. H. et al. *Protein measurement with the Folin phenol reagent. The Journal of biological chemistry*, v. 193, n. 1, p. 265–275, nov. 1951.
12. MELO FILHO, C. M. de. *Digestão anaeróbia de microalgas e cianobactérias submetidas a pré-tratamentos visando a produção de metano. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil)–Recife: Universidade Federal de Pernambuco*, 2017.
13. MUÑOZ, R.; GUIEYSSE, B. *Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. Water Research*, v. 40, p. 2799–2815, 2006.
14. PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. *Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. Bioresource Technology*, New York, 2011.
15. PCC. (2021). *Climate change widespread, rapid, and intensifying*. IPCC.

16. PRAJAPATI, S. K.; MALIK, A.; VIJAY, V. K. *Comparative evaluation of biomass production and bioenergy generation potential of Chlorella spp. through anaerobic digestion*. *Applied Energy*, [S. l.], 2014.
17. QUIJANO, G.; ARCILA, J. S.; BUITRÓN, G. *Microalgal-bacterial aggregates: Applications and perspectives for wastewater treatment*. *Biotechnology Advances*, v. 35, p. 772-781, 1 nov. 2017.
18. SALES, M. et al. *Start-up strategies to develop aerobic granular sludge and photogranules in sequential batch reactors*. *Science of the Total Environment*, v. 828, 1 jul. 2022.
19. SÁTIRO, J. R. Fatores que influenciam a biofloculação de microalgas em lagoas de alta taxa com esgotos sanitários. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil e Ambiental) Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2021.
20. SINGH J, Gu S. *Commercialization potential of microalgae for biofuels production*. *Renewable Sustainable Energy Rev* 2010.
21. SOLÉ-BUNDÓ, M.; PASSOS, F.; ROMERO-GÜIZA, M. S.; FERRER, I.; ASTALS, S. *Co-digestion strategies to enhance microalgae anaerobic digestion: A review*. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, [S. l.], 2019.
22. SURESH, A.; SEO, C.; CHANG, H. N.; KIM, Y. C. *Improved volatile fatty acid and biomethane production from lipid removed microalgal residue 80 (LRμAR) through pretreatment*. *Bioresource Technology*, [S. l.], 2013.
23. WANG, M.; SAHU, A. K.; RUSTEN, B.; PARK, C. *Anaerobic co-digestion of microalgae Chlorella sp. and waste activated sludge*. *Bioresource Technology*, [S. l.], 2013.